

**БЪЛГАРСКИ ФОКАЛЕН ЦЕНТЪР КЪМ *EFSA*  
ЦЕНТЪР ЗА ОЦЕНКА НА РИСКА КЪМ БЪЛГАРСКА  
АГЕНЦИЯ  
ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ**

**МИКОТОКСИНИ – РИСКОВЕ И ПОСЛЕДИЦИ ЗА  
ЖИВОТНИТЕ И ХОРАТА**

**МЕТОДИ ЗА ПРЕДОТВРАТЯВАНЕ  
ТЯХНОТО ОБРАЗУВАНЕ И НАМАЛЯВАНЕ НА НИВАТА  
ИМ**

**СОФИЯ, 2013 г.**

**Материалът е изготвен от колектив на Центъра за оценка на риска в състав:**

**хим. Петя Блажева; д-р Ирена Богоева–Величкова; д-р Снежана Тодорова;  
д-р Надежда Сертова; д-р Сибила Попова; доц. д-р Бойко Ликов;**

## Съдържание:

Въведение.....	2
Какво представляват микотоксините?.....	3
Фактори, влияещи върху гъбното продуциране на микотоксини.....	5
- Образуване на микотоксини преди и след прибиране на реколтата.....	6
Рискове от продуциране на микотоксини (афлатоксини) при фуражите.....	7
- Рискове от продуциране на микотоксини във фермата и полето.....	7
Влияние върху здравето на животните и ефектите, които предизвиква консумацията на фураж с наличие на микотоксини.....	8
Преминаване на микотоксините (афлатоксини) през метаболизма на млекодайните животни, отделянето им с млякото и натрупване в мускулната тъкан.....	9
Анализ на микотоксини (количествени и качествени методи).....	10
Методи за намаляване нивата на микотоксини, детоксикация и ефективност.....	11
Законодателство.....	13
Заключение.....	14
Използвана литература.....	15

## Въведение

През последните години се констатира нарастване случаите на микотоксини в храни и фуражи. Това създава необходимост отново вниманието да бъде насочено към един вече познат от миналото проблем. С все по-интензивната промяна на метеорологичните условия в различни области на ЕС се създават благоприятни условия за продуциране на микотоксини на нови територии извън тропичните и субтропичните. Поради тази причина сериозността на проблема с микотоксините е във фокусното полезрение на европейските институции (Европейска комисия и EFSA). Европейската комисия ежегодно организира Fuzarium Toxin Forum с участието на представители от Държавите членки и Асоциациите (европейски и национални), както и представители на различни научни институти с цел предоставяне на нови информации относно появата на Fuzarium токсини в зърнени култури. В началото на месец февруари 2012 г. е проведен осмият такъв форум. Едно от последните изготвени становища на EFSA по този въпрос е по искане на Европейската комисия, относно рисковете за здравето на животните и хората поради наличието на Н-2 и НТ-2 (Fuzarium токсини) в храните и фуражите (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. EFSA Journal 2011; Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal)).

Също така е създадена експертна група по „Вземане на проби от фуражи“ към Постоянния комитет по хранителната верига и здравеопазване на животните, на чиито заседания през 2012 г. се обсъждат текстовете на проект на Ръководство за вземане на проби от зърнени суровини за съдържание на микотоксини. По този въпрос се работи още от 2006 г. Документът представлява указания за вземане на проби от големи партии. Всички тези усилия на институциите имат обща цел за подобряване на прилаганите контролни мерки, които се упражняват относно намаляване ефектите на микотоксините върху здравето на хората и животните.

В тази книжка са описани факторите, влияещи върху продуцирането на микотоксините, както и потенциалните рискове за здравето на хората и животните. Необходимо е да се насърчи прилагането на някои позабравени агрономически практики, като част от мерките за намаляване нивата на микотоксини, които са обобщени в този материал.

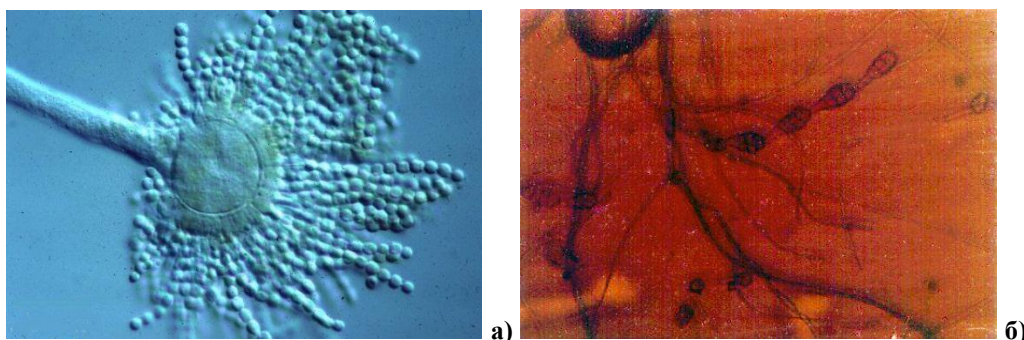
В глобален мащаб от Системата за бързо съобщаване на храни и фуражи (RASFF) се констатира сравнително висок дял на несъответствия по отношение на микотоксините в храни и фуражи (средно между 15–20% от общия брой на всички постъпили сигнали (нотификации) за всяка една от последните три години). През 2012 година се появяват случаи на афлатоксин М<sub>1</sub> в мляко (5 сигнала от началото на годината до м. октомври 2012 г. при липса за предходните три години) от млекодайни животни. Всички тези предпоставки говорят сами по себе си за сериозността на проблема. България за съжаление не остава изолирана от общата ситуация в това отношение и у нас е констатирано наличие на афлатоксин М<sub>1</sub> в мляко (община Ловеч), като установената причина за това след извършено проучване са пашата на животните на необработени след жътва земи с „остатъчна“ царевица по тях.

В този материал е представен и кратък преглед на европейската законодателна рамка по отношение на мерките за контрол, упражняван във връзка с микотоксините.

## Какво представляват микотоксините?

Микотоксините са вторични токсични метаболити на гъбни фитопатогени, образувани преди и по време на прибиране на реколтата, или при неправилно съхранение на зърнените култури. Към тези фитопатогени се отнасят родовете *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*. Терминът микотоксини е приет през 1962 г. след криза в птицеферми, намиращи се местност близо до Лондон, Англия по време на която измират около 100 хиляди пуйчета. Установено е, че причината за високата смъртност е съдържание на фъстъчено брашно във фуража, с наличие на метаболити (афлатоксини) на *Aspergillus flavus*. Благодарение на съвременните методи, научните изследвания и все по-големия интерес в тази област, до сега са установени повече от 300 вида различни микотоксини. Независимо от географските и климатични особености, които предопределят до голяма степен образуването на микотоксини, експозицията от тези вещества върху животните и хората е глобална [1].

**Афлатоксините** ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  и  $G_2$ ) са най-често срещаните микотоксини (табл. 1), със силно изразено канцерогенно действие. По своята химична природа афлатоксините представляват фурокумарини. Класифицирани са от Международната Агенция за ракови изследвания (IARC) в клас 1 канцерогени за хората. Афлатоксините се продуцират от щамовете на *Aspergillus flavus* (фиг. 1–а) и *Aspergillus parasiticus*. Афлатоксин  $B_1$  се смята за най-силно токсичният метаболит. Неговият дял е около 80% от общата сума на афлатоксините, а афлатоксин  $G_1$  е най-слабо токсичен. Афлатоксин  $B_1$  е микотоксина, най-често съобщаван в Системата за бързо съобщение на храни и фуражи (RASFF). Установено е, че афлатоксин  $B_1$  най-често се среща в зърнените култури царевица, пшеница и ориз [2]. Той има изразен хепато-канцерогенен ефект върху хората и животните. Ефектът на действие е различен за различните видове в зависимост от възрастта, пола и хранителната диета [1].



Фиг. 1– а) *Aspergillus flavus*; б) *Alternaria* sp.

**Охратоксин А** се продуцира от видове на род *Aspergillus* и *Penicillium* (табл. 1), и е вероятен канцероген (група 2В), съгласно Международната Агенция за ракови изследвания (IARC). Той причинява бъбречна токсичност, нефропатия и имунна супресия [1].

**Трихотецените** са голяма група микотоксини, продуцирани от различни видове на род *Fusarium* (табл. 1). До момента са идентифицирани приблизително 170 трихоценови микотоксина. Те инхибират синтеза на протеини. Епидемиологичните проучвания показват, че преобладаващи са тип А и Б, които са широко разпространени в зърнени култури. Най-разпространените микотоксини от тази група са деоксиниваленол (DON), ниваленол (NIV), 3- или 15-ацетил-деоксиниваленол (AcDON), Т-2 и НТ-2 токсини. Важно е да се отбележи, че някои от тези токсини се образуват едновременно и проявяват синергичен ефект върху организма. От тази група

най-често срещан сред зърнените култури е деоксиниваленол (DON) при фуражните суровини и производни от тях продукти. Той е един от по-слабо токсичните трихотецени, но се приема, като сериозен проблем, поради глобалното си разпространение [1].

**Зеараленонът** се продуцира от видове на род *Fusarium* и е със силно изразен естрогенен ефект, които води до нарушения на възпроизводителните функции, мъртвородени животни и намаляване количествата на качествената семенна течност при мъжките животни [1].

**Фумонизините** се продуцират от няколко вида от род *Fusarium*– това са *Fusarium proliferatum* и *Fusarium nygamai*, както и *Alternaria sp.* (Фиг.1–б) Най-често срещан е фумонизин В<sub>1</sub>. Освен характерната хепатотоксичност и нефротоксичност те засягат и на имунната система [1].

Табл. 1 Преглед на най-срещаните микотоксини

класове микотоксини	видове микотоксини	гъби продуциращи микотоксини
афлатоксини	афлатоксин В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>
трихотецени	Деоксиниваленол (DON), ниваленол (NIV), фузаренон Х(тип-В трихотецетени), Т-2 токсин, НТ-2 токсин (Тип-А трихотецетени)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fusarium poae</i> , <i>Fusarium equiseti</i>
зеараленон	зеараленон	<i>Fusarium graminearum</i>
охратоксин	охратоксин А	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>
фумонизини	фумонизин В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , В <sub>3</sub>	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium proliferatum</i>

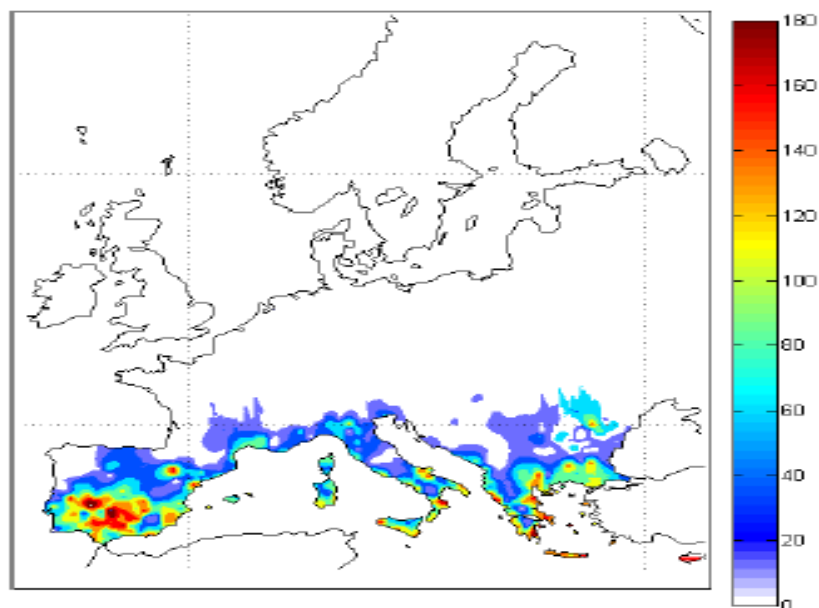
По отношение разпространението на микотоксините и по специално афлатоксините в началото на 2012 г. Европейският орган по безопасност на храните (EFSA) публикува доклад относно моделиране, прогнозиране и картографиране появата на афлатоксини в зърнени култури на територията на Европейския съюз (ЕС), вследствие на климатичните изменения [2].

При изготвяне на доклада, EFSA използва, от една страна, база данни на ЕВРОСТАТ (2003–2009 г.) по отношение селскостопанските продукти, и по-специално отглеждането на царевица в Европа, а от друга страна използва данни за климатичните условия с цел проследяване афлатоксиновия рисков индекс за различните държави в ЕС. Установява се, че най-застрашени от афлатоксини са: Испания, Италия и Гърция. Тези държави имат най-високи стойности за афлатоксинов рисков индекс. Португалия, Франция, **България** и Румъния също са едни от рисковите държави, според доклада и на тях трябва да се обърне по-специално внимание по отношение на разпространението на афлатоксини. Тези държави се характеризират с *ниско* и *средно* рискови индекси. *Ниско* рискови индекси са установени и за северните европейски държави (Фиг. 2). В разработеният модел в този доклад са идентифицирани четири нива на афлатоксинов рисков индекс за цяла Европа:

- афлатоксинов рисков индекс между 141 и 180 (от червен до тъмно червен цвят, картата на Фиг. 2) са свързани с *висок* риск на образуване на афлатоксин В<sub>1</sub>;

- афлатоксинов рисков индекс между 101 и 140 (жълто до оранжев цвят, картата на Фиг. 2) са свързани със *среден* риск на образуване на афлатоксин В<sub>1</sub>;
- афлатоксинов рисков индекс между 41 и 100 (зелено до бледо син цвят, картата на Фиг. 2) са свързани с *нисък* риск на образуване на афлатоксин В<sub>1</sub>;
- афлатоксинов рисков индекс под или равен на 40 (син до виолетов цвят, картата на Фиг. 2) *няма* риск от образуване на афлатоксин В<sub>1</sub> в областта.

На база метеорологичните данни за различните области в ЕС се наблюдава тенденция в която се открояват отделни райони с прогнозно рискови стойности по отношение на афлатоксин В<sub>1</sub> в царевича (*над нула*) това са Пиренейския полуостров, Италия и Балканите (**България**, Гърция, Словения, Кипър) (Фиг. 2) [2].



Фиг. 2 Прогнозна карта за 2079 г. относно риска от замърсяване с афлатоксин В<sub>1</sub> в царевича. При средни метеорологични условия за периода 2000-2100 г. [2]

### Фактори, влияещи върху гъбното продуциране на микотоксини

Трудно е да се определят потенциалните рискове от продуцирането на микотоксини, защото тяхното образуване се влияе от няколко взаимодействащи по между си фактора, като:

- Физични фактори – тук се отнасят факторите на околната среда, като влага, температура и механични повреди;
- Химични фактори – въглероден диоксид, кислород, рН, състав на почвата и употребата на пестициди;
- Биологични фактори– тук се отнася най-вече видовата принадлежност на растенията, генетично модифицирани култури и инвазия от насекоми или спори [3];

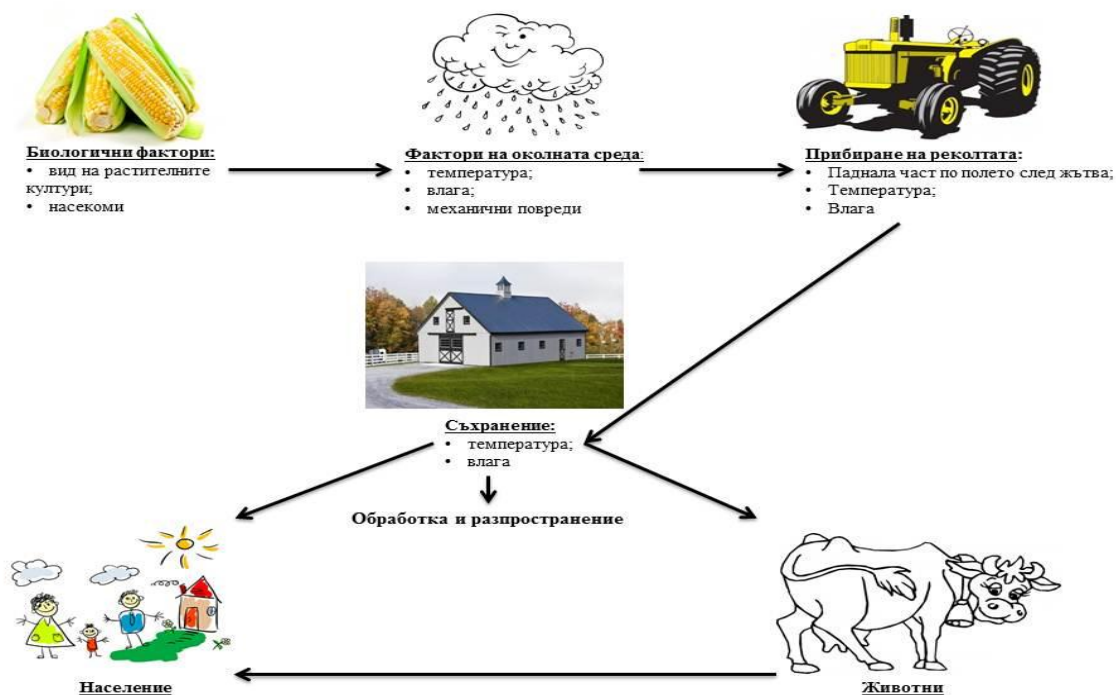
Влагата и температурата са най-важните фактори на околната среда (фиг. 3), оказващи влияние върху растежа на гъбни фитопатогени и продуцирането на микотоксини. Факторът влага зависи от съдържанието на вода по време на жътва, сушене, обгазяване и смесване на зърното преди или по време на съхранение. Съдържанието на влага може да се повиши от дъждовни течове в складовите

помещения или в резултат на протичане на процес кондензация. Установено е, че влагата мигрира в съхраняваните зърнените култури при наличие на температурни разлики от центъра към периферията, кондензира и предоставя идеални условия за растеж на плесените. По този начин се образуват т. нар. "горещи точки" в някои зони, където се образуват гъбните фитопатогени [3]. При съхранение на зърнени култури с наличие на гъбни фитопатогени, продуциращи микотоксини, характерни предимно за полето (напр. с *Aspergillus flavus*) и влага над 15% се създава благоприятна среда за продуциране на афлатоксини. Това е т. нар. гъбично дишане, при което се усвоява кислород и въглехидрати от зърнените култури и се отделя въглероден диоксид и вода. Тази допълнителна, „несвързана“ вода стимулира гъбичния растеж, а оттам и токсинообразуването [3].

Установено е, че растежът и токсинообразуването на гъбния фитопатоген (*Aspergillus flavus*) са възможни в границите на рН от 1,7 до 9,9. Това е доста широк диапазон, при който остава активен процеса на токсинообразуване.

Наличието на насекоми и микроорганизми, които се отнасят към биологичните фактори, също има своя принос към развитието на гъбни фитопатогени. Така например *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus* приоритетно се развиват в непосредствена близост до увредени от насекоми зърна до кочана на царевичата. При съхранение в складови помещения, наличието на микроорганизми и насекоми в зърнените култури също води до кондензация на влагата и създава предпоставка за образуване на "горещи точки" [3].

Благоприятната температура за развитие варира от 0° С до 35° С в зависимост от видовете гъбички [3].



Фиг. 3 Фактори, влияещи върху появата на микотоксини в храни и фуражи.

### Образуване на микотоксини преди и след прибиране на реколтата.

Образуването на микотоксини както преди, така и след прибиране на реколтата (табл. 2) до голяма степен отразява климатичните условия. Така например афлатоксините и охратоксините могат да бъдат открити във фуражните суровини след

прибиране на реколтата, докато деоксиниваленолът и в известна степен зеараленонът (фозариум токсини) се откриват преди прибиране на реколтата от полето [3].

**Табл. 2 Видове микотоксини в зърнените култури преди и след прибиране на реколтата.**

Зърнени култури	Преди прибиране на реколтата	След прибиране на реколтата
ечемик	DON, NIV, Zea, HT-2, T-2	OTA, Afla, Cit
царевица	DON, Fum, Zea	Zea, Afla
овес	DON, NIV, HT-2, T-2	OTA, Cit
ориз		Afla, Sterig, OTA
ръж	Ergot	OTA
сорго	Ergot	Afla
пшеница	DON, NIV, Zea, ergot	OTA, Afla, Cit

**Забележка:** Afla = афлатоксини; Cit = цитринин; DON = деоксиниваленол; Ergot = ергогамин HT-2 = HT-2 токсин; NIV = ниваленол; OTA = охратоксин А; Sterig = стеригматоцистин; Zea = зеараленон; Fum = фумонизини.

### **Рискове от продуциране на микотоксини (афлатоксини) при фуражите**

Екстремните климатични условия тази година (2012 г.) в световен мащаб засягат до голяма степен и България. Продължителното засушаване с високи температури води до наличие на афлатоксини в зърнените култури, като най-засегнатата от тях е царевицата. Това не е прецедент, а е тенденция, която се наблюдава през последните десет години.

Рискът от наличие на високи нива на афлатоксини във фуражните суровини (царевица, слънчоглед, фъстъци) зависи от географското местоположение на отглеждане на тези култури. До скоро се считаше, че фуражните суровини, отглеждани на територията на Европа са в по-ниска степен рискови относно наличие на високи нива на афлатоксини. Тази проява на висок риск се дължи предимно на географски региони с тропичен и субтропичен климат. През последните десет години ставаме свидетели на случаи, описани в научни доклади, оспорващи тази хипотеза. Така например, в едно италианско проучване (Vallone and Dragoni, 1997) са установени високи нива на афлатоксин В<sub>1</sub> (25–40 µg/kg) в проби от царевичен силаж. В друго проучване на (Pietri and Diaz, 2003) е установено наличие на афлатоксин В<sub>1</sub> в проби от царевица, добита от земи по долината на река По в Италия. Това са райони, определени като по-ниско рискови относно образуване на микотоксини според географското си местоположение. В последствие се установява и наличие на афлатоксини, надхвърлящи максимално допустимите нива в проби от мляко, взети за анализ от тези райони (пробите са взети от малки стопанства през есента на 2003 г.). В този случай трябва да се отбележи, че високите температури, сушата, инвазията от насекоми създават благоприятни условия за развитие на *Aspergillus flavus* и образуването на афлатоксини. Всички тези описани случаи опровергават основната хипотеза до момента, че високо рискови по отношение развитие на *Aspergillus flavus* са само регионите с тропичен и субтропичен климат [4].

### **Рискове от продуциране на микотоксини във фермата и на полето.**

Съхранението на фуражи във фермите също може да допринесе за експозиция на животните от микотоксини. Сламата, използвана като груб фураж за коне и преживни животни, може да е източник на микотоксини във фермите. Фермерите често се изкушават да дават плесенясало зърно на животните с цел намаляване разходите за фураж. Тази практика носи риск от поява на афлатоксини в млякото (M<sub>1</sub> и M<sub>2</sub>), месото и вътрешните органи, добивани от животните, а това



представлява риск и за населението, като краен консуматор на тези продукти. Тази практика носи риск не само от заразяване с микотоксини, но при някои обстоятелства променя хранителния състав на зърното, което от своя страна води до промени в реакцията на организма при експозицията на микотоксини.

### **Влияние върху здравето на животните и ефектите, които предизвиква консумацията на фураж с наличие на микотоксини**

При животните се наблюдава поява на т. нар. **микотоксикоза**. Един от първите признаци за микотоксикоза е забавеният темп на растеж, намаленият прием на фураж от страна на животните и непълноценно използване на хранителните вещества. Може да се подозира поява на микотоксикоза в случаите, когато причините за появата на симптоми на заболяване трудно се идентифицират или се проявят следните признаци:

- Проявените симптоми се свързват само с определени партии фураж;
- Прилаганото лечение с антибиотици или други медикаменти има малък ефект;
- Симптоматиката да е сезонна (т. е. да корелира спрямо метеорологичните условия).

Повечето от описаните в литературата проучвания относно микотоксикози са от експерименти, които са извършени в лабораторни условия с група животни, на които е даван фураж с микотоксини. Освен това при повечето лабораторни изследвания се използват високи нива на микотоксини, за разлика от нивата им в околната среда. Поради това е трудно да се екстраполират тези лабораторни резултати до полевата ситуация. Полевите ситуации често са по-сложно устроени (животните могат да са изложени на повече от един микотоксин, например афлатоксини, фумонизини, деоксиниваленол и зеараленон). Освен това, много гъбни фитопатогени продуцират едновременно няколко вида микотоксини (напр. фузариум видовете).

Афлатоксикозите са обобщено понятие на заболяване при животните, което настъпва след хранене с фуражи, съдържащи токсични метаболити на гъбните фитопатогени *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*. То протича остро или хронично и се характеризира с нервни или храносмилателни нарушения, хепатози, пролиферация на жлъчните пътища и тумори (табл. 3).

*Табл. 3 Заболявания при животните в резултат действието на микотоксините.*

<b>микотоксини</b>	<b>ВИДОВЕ МИКОТОКСИНИ ВЪВ фуражи (фуражни суровини)</b>	<b>наблюдавани ефекти при животните</b>
<b>афлатоксини</b>	афлатоксин В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>	Чернодробни заболявания (хепатотоксични, канцерогенни и тератогенни ефекти)
<b>трихоцени</b>	Деоксиниваленол (DON), ниваленол (NIV), фузаренон X (тип-В трихотецетени), Т-2 токсин, НТ-2 токсин (Тип-А трихотецетени)	Имунологични ефекти, хематологични промени, храносмилателни разстройства (повръщане, диария, намален прием на фураж) дерматит, орални лезии, кръвоизливи на чревните тъкани, отоци
<b>зеараленон</b>	зеараленон	Естрогенни ефекти (оток на вулвата, разширение на матката), атрофия на яйчниците и тестисите, аборти
<b>охратоксин</b>	охратоксин А	Нефротоксичност, свине нефропатия, увреждане на черния дроб, потискане на имунната система
<b>фумонизини</b>	фумонизин В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , В <sub>3</sub>	Белодробен оток, нефротоксичност, хепатотоксичност

Биологичните реакции след поглъщане на един или група микотоксини варират от остри заболявания с висока смъртност до хронични нарушения с намаляване продуктивността на животните. Изчислено е, че с всеки mg/kg увеличение на афлатоксини във фуража, темпът на растеж спада с 16% при прасета и 5% при бройлери. За деоксиниваленола с всеки mg/kg увеличение във фуража, темпът на растеж спада с 8% при свинете, а бройлерите не показват промяна при концентрации под 16 mg/kg. Фумонизините са с най-ниско въздействие върху темпа на растеж, така например при увеличение с всеки mg/kg, забавянето на темповете на растеж се оценяват на 0,4% за прасета и 0% за бройлери [2].

В средата на 80-те години темата за т. нар. **маскирани микотоксини** е широко дискутирана, така например в някои от случаите на клинични наблюдения на микотоксикози при животни е установено, че степента на заболяемост не корелира с измереното сравнително ниско съдържание на микотоксини в консумирания фураж. Тази неочаквано висока токсичност се приписва на неоткрити т.е. „маскирани“ форми на микотоксини, които се трансформират в храносмилателния тракт на животните. Установено е, че зеараленон-4-бета-D-глюкопиранозид освобождава зеараленон след храносмилателните процеси на животните. При анализ на фуража не е установено наличие на зеараленон, но след храносмилателните процеси той се освобождава в организма [2].

В някои случаи се образуват едновременно различни микотоксини, които въздействат едновременно. Тоест, много вероятно е животните да са изложени на въздействие на групи от микотоксини, а не на отделни съединения. Това е т. нар. **синергично действие** на микотоксините, за което е необходима оценка на синергичните ефекти на продуцираните токсини от родовете *Penicillium* и *Aspergillus*. Резултатите получени от едно такова проучване потвърждават синергични ефекти между отделни микотоксини [2].

### **Преминаване на микотоксините (афлатоксини) през метаболизма на млекодайнните животни, отделянето им с млякото и натрупване в мускулната тъкан**

В някои случаи се установява наличие на афлатоксин M<sub>1</sub> в мляко от крави, кози, овце. Това се дължи на консумацията на фураж, чиито нива на афлатоксин B<sub>1</sub> многократно надвишават максимално допустимите норми съгласно Европейското законодателство. Международната агенция за изследване на рака (IARC) и Световната здравна организация (WHO) определят афлатоксин M<sub>1</sub> като втора група канцерогенни съединения [5]. По отношение на канцерогенния ефект на афлатоксин M<sub>1</sub> се счита, че той е с поне десет пъти по-слабо изразени канцерогенни свойства в сравнение с този на афлатоксин B<sub>1</sub> [6].

Прицелният орган на афлатоксин B<sub>1</sub> е черният дроб, където основно се акумулира. Един от случаите на констатирано наличие на афлатоксин M<sub>1</sub> в мляко в България е в община Ловеч (09–10.2012 г.), при който след проведено проучване се установява, че причината за високите нива на афлатоксин M<sub>1</sub> в млякото добивано от животни от този район е пашата им на необработени земи (фиг. 4) след жътвата с паднала по тях част от реколтата /царевица/.

Значителна част от приетият с консумирания фураж афлатоксин B<sub>1</sub> метаболизира в предстомашията и не попада в кръвната плазма. Малка част от афлатоксин B<sub>1</sub> достига до черния дроб и там преминава в афлатоксин M<sub>1</sub>, една част от който попада в жлъчката, а другата се излъчва с млякото. В повечето случаи около 1%

от приетия афлатоксин В<sub>1</sub> от консумирания фураж метаболизира в афлатоксин М<sub>1</sub>. Описаният процент силно варира и е различен при всяко доене и за всяко животно [4].

Установено е, че седемдесет и два часа след преустановяване приема на фураж с наличие на афлатоксин В<sub>1</sub>, съдържанието на афлатоксин М<sub>1</sub> в млякото намалява до нива, които не могат да се установят при лабораторен анализ [7].



**Фиг. 4** Необработени земи след събиране на царевична реколта край с. Дойренци, община Ловеч

По отношение риска за населението при консумация на мляко с наличие на афлатоксин М<sub>1</sub> е нужно да се прецизират различните възрастови групи. Като най-уязвими се явяват малките деца и кърмачетата, поради еднообразното им хранене с мляко. Не случайно максимално допустимите нива на афлатоксин М<sub>1</sub> в мляко за хранене на деца (0,025 µg/kg), определени в Европейското законодателство са на половина от стойностите спрямо тези при възрастните (0,05 µg/kg). Липсват епидемиологични проучвания относно връзката между евентуален прием на афлатоксин М<sub>1</sub> с млякото и рак на черния дроб при хората [5].

Направени проучвания показват, че експозицията при хората по отношение на афлатоксин М<sub>1</sub> при консумация на месо, добито от животни, консумирали фураж с наличие на афлатоксин е незначителна поради факта, че търбушната микрофлора на самите животни драстично редуцира нивата на афлатоксини и предотвратява натрупването им в мускулатурата [8].

### **Анализ на микотоксини (количествени и качествени методи)**

В разнообразният набор от храни и фуражи, микотоксините представляват сериозно аналитично предизвикателство. Химичният анализ е от съществено значение за определяне степента на микотоксикологично замърсяване. Количествено определяне на тези съединения изисква сложно лабораторно оборудване, като високоефективна течна хроматография, газова хроматография с ултравиолетова (UV) или флуоресцентна (FLD) детекция. За директно определяне профилите на микотоксините се прилага високоефективна течна хроматография с мас-спектроскопия, която дава възможност за едновременно определяне много видове микотоксини в една проба. В някои случаи са задоволителни и резултатите, получени и от бързи системи за анализ на микотоксини (ELISA техники), използвани най-често за скрининг. Някои по-нови подходи се основават на геномиката (*наука за изучаване геномите на организмите*) и транскриптомиката (*определя кога и къде се изявяват гените, т.е. кои гени са транскрипционно активни в дадена клетка*), като средство за индиректен анализ на микотоксините. Тези технологии използват способността на живите клетки да реагират в присъствието на химични вещества,

оставяйки специфични отпечатъци под формата на генна експресия според типа им. Те биха могли да се превърнат в нови средства за скрининг. [9]

Етапът на пробовземане е най-големият източник на грешки при количествено определяне на микотоксините. Като проблем се очертава представителността на пробите, например такива, взети от големи партии (кораби, силози и др.). Тези трудности възникват поради неравномерното разпределение на токсините в тези партии. В тези случаи, когато начина на пробовземане не позволява да се вземат точкови проби, законодателството регламентира това да се осъществява по време на товарене или прехвърляне на зърнените култури – т. нар. **динамично пробовземане**.

## **Методи за намаляване нивата на микотоксини, детоксикация и ефективност**

Профилактиката по отношение на микотоксините е от съществено значение по-скоро за минимизиране, проблемите свързани с тях, отколкото за отстраняването им. Всяка стратегия за превенция на микотоксините трябва да обхваща всички етапи при производството на храни и фуражи:

- Първа стъпка – етап преди поява на гъбичките;
- Втора стъпка – по време на гъбната фитопатогенна инвазия върху зърнените култури и продуцирането на микотоксини;
- Трета стъпка – при високи нива на микотоксини в събраната вече реколта.

Усилията трябва да бъдат насочени приоритетно върху първите две стъпки, защото след това е трудно осъществима детоксикацията на зърнените култури. Управленските практики за постигане на максимална ефективност за намаляване наличието на микотоксини включва засаждане на адаптирани сортове, правилно торене, борба с плевелите, равномерно напояване и правилно редуване на културите (Табл. 4) [10]. Но дори и най-добрите стратегии за управление не могат да елиминират микотоксин продуциращите гъбни фитопатогени с години напред. Няколко вида гъбни фитопатогени от род *Fusarium* например са често срещани при зърнените култури, които оцеляват и през зимата.

Табл. 4 Приложение на различни селскостопански практики и ефекти от тяхното действие

Селскостопански практики	Ефект на действие
Ротация на културите	Минимален, слабо ефективен метод сам по себе си.
Оран	Оран на дълбочина 15(cm) след прибиране на реколтата намалява <i>Fusarium</i> при пшеницата.
Почвени торове	Променят скоростта на разлагане на остатъчните вещества и влияят върху скоростта и растежа на културите.
Трансгенен подход за растителна самозащита	Сортове с установена генетична резистентност спрямо някои микотоксин продуциращи гъби.
Време на сеитба	Променя се времето за сеитба (напр. за умерените географски ширини ранното засяване на царевичата намалява установените нива на микотоксини в реколтата).
Химичен контрол	Употреба на фунгициди.
Биологичен контрол	Употреба на микробни антагонисти (напр. <i>Bacillus subtilis</i> инхибира растежа на микотоксин продуциращи гъби)
Борба с насекоми	Употреба на инсектициди. Друга алтернатива от научна гледна точка, но с известни резерви са употреба на генетично модифицирани, устойчиви на насекоми зърнени култури (Bt-царевични хибриди), които съдържат ген от бактерия <i>Bacillus thuringiensis</i> , синтезиращ токсичен протеин за ципокрили вредители.

Описаните по горе техники са подходящи преди и по време на растежа на зърнените култури на полето. След жътва и прибирането на реколтата мерките, които трябва да се предприемат са:

Физични методи за обработка на зърнените култури [10]:

- **Сортиране** – установено е, че счупените зърна съдържат около 10 пъти повече микотоксини. Този метод на превенция е особено ефикасен по отношение на *Fusarium spp.* Съществуват автоматизирани системи за сортиране (напр. ASTER разработена в TNO–Холандия) с добра ефективност.
- **Измиване** – с вода, прилага се само за реколта, предназначена за смилане (винаги всеки етап на смилане е съпроводен предварително с етап овлажняване на зърнените култури) или преди процес на етанолова ферментация. В другите случаи този подход е неподходящ, поради големите разходи, които трябва да се направят за изсушаване на зърнените култури.
- **Лющене** – механичен метод на отстраняване на триците (външна обвивка) от зърното, което води до намаление нивата на някои микотоксини с около 34%.
- **Облъчване** – установено, е че гама-лъчите ( $\gamma$ -лъчи) в доза над 4 kGray намаляват гъбичната инфекция и инактивират растежа ѝ.
- **Микотоксин–свързващи агенти** или **адсорбенти** – това са предимно вещества с минерален състав (алумино силикати, глини, зеолити), които адсорбират микотоксините и се екскретират в тора. Най-често се използват за афлатоксини, поради по-голямата им склонност на адсорбция при високи нива на рН. Направени са изследвания за ограничаване степента на заразяване и с други микотоксини, освен афлатоксините, а именно на трихотецени, зеараленон, охратоксини и фумонизини във фуражи при използване на адсорбенти, на които резултатите са противоречиви и не до там задоволителни. За оценка ефикасността на микотоксин–свързващи агенти от значение е стабилността на

взаимодействието сорбент–токсин (за да се предотврати десорбция на токсина) и нивата на рН (микотоксин–свързващите агенти трябва да действат в условия на ниско рН в стомашно–чревния тракт) [2].

Химични методи за детоксикация на зърнените култури:

- **Амониев хидроксид или газообразен амоняк** – позната още, като процедура с висока ефикасност по отношение намаляване нивата на афлатоксини. Амонякът може да се използва като газ или течност, но и в двата случая се касае за трудоемка и опасна процедура. Тя трябва да се извършва от добре обучен оператор.

Всичко това налага да се помисли за създаване на процедури за детоксикация за в бъдеще. Към момента няма официално одобрена детоксикираща практика. На заседание проведено през ноември 2012 г. на Постоянния комитет по хранителната верига и здравеопазване на животните, секция „Хранене на животните“, Финландия повдига въпроса относно продължаване на работата по проект на Регламент за детоксикация на фуражите по отношение на афлатоксините. Счита се, че необходимостта от изготвяне на процедура за детоксикация е крайно наложителна в предвид текущата ситуация с микотоксините и по специално на афлатоксините.

## Законодателство

Актуално европейско законодателство относно контрола на микотоксини в храни и фуражи:

### ХРАНИ

**Регламент (ЕО) № 1881/2006** на Комисията от 19 декември 2006 година за определяне на максимално допустимите количества на някои замърсители в храни, Приложение I, раздел 2 са определени:

1. Максимално допустими количества на **афлатоксин В<sub>1</sub>** за **царевица**, преди консумация от човека или преди влагане като съставка в производството на **храни: 5,0 (µg/kg)**.
2. Максимално допустими количества на сумата от **афлатоксини (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> и G<sub>2</sub>)** за **царевица**, преди консумация от човека или преди влагане, като съставка в производството на **храни: 10,0 (µg/kg)**.

Максимално допустими количества на **афлатоксин М<sub>1</sub>** за **сурово мляко и топлинно обработено мляко** за производство на млечни продукти: **0,05 (µg/kg)**.

*Максимални допустимото количество на афлатоксин М<sub>1</sub> в мляко в рамките на ЕС е сред най–ниските в света и се основава на принципа ALARA–As Low As Reasonably Achievable (толкова ниски колкото е разумно постижимо)* [4];

**Регламент (ЕО) № 466/2001** на Комисията от 8 март 2001г. за определяне на максималното съдържание на някои замърсители в храни, Приложение I, раздел 2 определя максималните стойности на **афлатоксин М<sub>1</sub> в мляко** (сурово мляко, мляко за производство на млечни продукти и топлинно обработено): **0,05 (µg/kg)**;

**Регламент (ЕО) № 401/2006** на Комисията от 23 февруари 2006 година за установяване на методи за вземане на проби и за анализ за целите на официалния контрол на нивата за микотоксини в храни.

## **ФУРАЖИ**

**Директива 2002/32/ЕО** на Европейския парламент и на Съвета относно нежеланите вещества в храните за животни;

**Регламент (ЕС) № 574/2011** на Комисията от 16 юни 2011 година за изменение на **приложение I към Директива 2002/32/ЕО** на Европейския парламент и на Съвета по отношение на максимално допустимите граници за нитрити, меламина, *Ambrosia spp.* и при преминаването на някои кокцидиостатици и хистомоноостатици, и за консолидиране на приложения I и II към директивата, Приложение I, раздел II определя, че максималното съдържание на **афлатоксин В<sub>1</sub>** във **фуражни суровини** е **0,02 mg/kg** (т.е. 20 µg/kg) при 12 % влага, за допълващи и пълноценни фуражи е **0,01 mg/kg** (т.е. 10 µg/kg) при 12 % влага с изключение на:

— комбинирани фуражи за млечни крави и телета, млечни овце и агнета, млечни кози и ярета, прасенца и млади домашни птици, където максималното съдържание е **0,005 mg/kg** при 12 % влага и

— комбинирани фуражи за едър рогат добитък (без млечни крави и телета), овце (без млечни овце и агнета), кози (без млечни кози и ярета), прасета (без прасенца) и домашни птици (без млади домашни птици), където максималното съдържание е **0,02 mg/kg** при 12 % влага;

Директива 2002/32/ЕО е въведена в националното законодателство с **Наредба 10 от 2009г.**, която регламентира максимално допустимите концентрации на нежелани субстанции и продукти във фуражите.

## **Заклучение**

Засиленият контрол по отношение на афлатоксин В<sub>1</sub> и М<sub>1</sub> трябва да се насърчава във всички държави–членки на ЕС с оглед на последните данни от Южна Европа. Необходимо е разширяване на мониторинговите програми за фуражни суровини, особено на царевица и нейните продукти. Необходими са детайлни проучвания, които да генерират по–голям обем от данни относно преноса на афлатоксини в млякото при млекодайнните животни. Не трябва да се омаловажава риска от влиянието на т. нар. маскирани микотоксини, както и на едновременното въздействие на групи микотоксини – синергично действие.

Ефикасността от методите за превенция и детоксикация е най–голяма при едновременна и комбинирана употреба. Приоритетно усилията трябва да са насочени към етапа преди и по време на поява на микотоксин продуциращите гъбички. За сега няма мерки за превенция, които да гарантират елиминиране на микотоксин продуциращите гъбички с години напред. Няма официално одобрена детоксикираща практика.

### **Използвана литература:**

- 1. Риск от замърсяване с микотоксини във фуражите и последици за животните, Петя Блажева, Център за оценка на риска към БАБХ, 2012г;**
- 2. SCIENTIFIC REPORT submitted to EFSA, Modelling, predicting and mapping the emergence of aflatoxins in cereals in the EU due to climate change;**
- 3. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security, Wayne L. Bryden, The University of Queensland, School of Agriculture and Food Sciences, Gatton, Queensland 4343, Australia;**
- 4. EFSA, 2005. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ergot as undesirable substance in animal feed. EFSA J. 225, 1–27;**
- 5. K.F.S.T. Silva and S.P. Gunarathne, Investigation of Farm Gate Cow Milk for Aflatoxin M1, U.P.D. Pathirana, , Postgraduate Institute of Agriculture, Universitu of Peradeniya, Peradeniya, Sri Lanka;**
- 6. EVALUATION OF CERTAIN MYCOTOXINS IN FOOD, Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Technical Report Series, 906;**
- 7. Pathirana, K.M.S. Wimalasiri<sup>1</sup>, K.F.S.T. Silva<sup>2</sup> and S.P. Gunarathne<sup>3</sup>; Tropical Agricultural Research Vol. 21(2): 119 - 125 (2010) Investigation of Farm Gate Cow Milk for Aflatoxin M1U.P.D. [8] Aflatoxins in corn, Iowa State University, Extension and Outreach, PM 1800 Reviewed August 2012;**
- 8. F. GALVANO, A. RITIENI, A. DE LORE NZO, G. PIVA and A. PIETRI, Mycotoxins in the human food chain: what risks for the consumer? Mediterranean University of Reggio Calabria/Federico II University/University of Tor Vergata/Catholic University of the Sacred Heart (Courtesy of Alltech Inc.), 20.12.2006;**
- 9. Списание „Фуражи и Хранене“, година XII, бр. 5, 2012 г. Технологии и качество на фуражите; Тестване за скрити микотоксини.**
- 10. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds, Jean Pierre Jouany, INRA, URH, Research Centre of Clermont-Theix, 63122 St Gen`es, Champanelle, France;**